

University of Groningen

Dopamine receptor agonists neuropharmacological and bionanalytical evaluation

Feenstra, Matthijs Gerrit Paul

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

1984

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Feenstra, M. G. P. (1984). *Dopamine receptor agonists neuropharmacological and bionanalytical evaluation*. Krips Repro B.V. Meppel.

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

SUMMARY

This thesis describes some neuropharmacological and bioanalytical studies with dopamine (DA) receptor agonists, more specifically dipropyl-2-aminotetralin derivatives. These and some other representative agonists were studied in three test systems for central DA activity in the rat and in addition the brain and serum concentrations of the catechol-containing compounds were determined. This led to the development of an *in vivo* receptor binding test for rat brain DA receptors.

In Chapter 1 DA is introduced and a survey is given of the ways by which drugs can interfere with dopaminergic systems.

In Chapter 2 a review is presented of the various *in vitro* and *in vivo* test systems that have been used to study DA agonist activity in drugs. It is concluded that still little is known about the interrelation of these test systems. The profound differences in activity of series of agonists and antagonists in some test systems has led to hypotheses of a DA receptor subdivision. The two most important hypotheses are discussed, i.e. the division into D_1 receptors, which are positively coupled to DA-sensitive adenylate cyclase, and D_2 receptors, which are not or negatively coupled to this enzyme; and the division into autoreceptors, located on the DA neuron, and postsynaptic receptors located on other cells. In addition the structure-activity relationships of DA receptor agonists are shortly discussed. It is concluded that the recent relative abundance of newly synthesized DA receptor agonists has as yet not resulted in a more precise description of the structure-activity relationships.

The clinical application of DA receptor agonists in Parkinson's Disease is mentioned, together with possible future applications, such as the use of selectively autoreceptor stimulating agents as antipsychotics.

The potencies of the agonists under study in decreasing rat brain concentrations of acidic DA metabolites are presented in Chapter 3. Time-effect curves are presented for 14 agonists. Among the dipropyl-2-aminotetralins the 5,6-dihydroxy- and the 5-hydroxy-analogues were the most potent, followed by the 6,7-dihydroxy- and the 6- and 7-monohydroxy-analogues. The non-hydroxylated compounds were the least potent, while the 8-hydroxy-analogue was inactive. These results compared well to the potencies in behavioural test systems, as described in the literature, except for the 7- and the 6-monohydroxy derivatives which were definitely more potent in decreasing DA metabolite levels than in inducing stereotyped behaviour in the rat. As these differences could reflect a relative autoreceptor-selective activity the same compounds were studied in test systems which reflect selective autoreceptor-mediated and postsynaptic receptor-mediated actions.

The results are described in Chapter 4 and they corroborate the findings referred to above. N,N-dipropyl-2-amino-7-hydroxytetralin in particular was about 50 times more potent in reversing the γ -butyrolactone-induced elevations in DA concentrations in the rat brain, which is thought to reflect autoreceptor activity, than in inducing stereotypy in the rat, which is thought to reflect postsynaptic receptor activity. It is concluded that this compound shows selectivity for DA autoreceptors.

The development of methods of determination of the brain and serum concentrations of DA agonists having a catechol group is reported in Chapter 5. Use is made of high-performance liquid chromatography with amperometric detection. These methods were applied to the determination of brain and blood concentrations in rats after peripheral administration of the drugs. The results indicate that the fraction of the drug that penetrates into the brain is de-

pendent on a number of factors, and that the ratio of brain to plasma concentration is not constant. By making a correction for the difference in distribution volume, it was possible to demonstrate that the ratio of brain to plasma concentration is similar to the ratio of brain to plasma concentration, which is explained.

The measurement of the binding of DA to DA receptors indicated a difference in the binding of DA to DA receptors and to DA receptors.

This phenomenon was explained by the fact that this difference is due to the fact that the binding test was developed for the study of the binding of DA to DA receptors. When a low dose of DA is administered to the rat, the binding of DA to DA receptors in the brain areas striatum and nucleus accumbens is specific binding to DA receptors. When a high dose of DA is administered, the binding of DA to DA receptors is non-specific binding to DA receptors. This was studied in relation to the binding of DA to DA receptors (decrease in binding of DA to DA receptors) and the binding of DA to DA receptors (decrease in binding of DA to DA receptors) ready maximal when the binding of DA to DA receptors is at the limit of the assay, which is the receptor occupation.

SAMENVATTING

Dit proefschrift gaat over de farmacologische effecten die in het lichaam worden veroorzaakt door dopamine-agonisten.

In Hoofdstuk 1 wordt een overzicht gegeven van de neurotransmitter dopamine, de werking van dopamine op de zenuwcellen in de substantia nigra en de belangrijke zenuwbaan in de substantia nigra, het belang van dopamine voor de aanpak van beweging, de afsterving van deze zenuwcellen. Deze ziekte is bekend als Parkinson's ziekte. Andere dopaminerge processen en afwijkingen worden besproken, zoals het hormoon prolactine.

DA en neurotransmitter dopamine worden besproken, omdat ze binden aan de receptoren op de zenuwcellen. Door de binding van dopamine aan de zenuwcellen worden geactiveerd.

In dit eerste hoofdstuk wordt de werking van dopamine (d.i. door het toedienen van dopamine) op de dopaminerge systemen in de substantia nigra en de activierende werking op de zenuwcellen besproken.

In Hoofdstuk 2 wordt de werking van dopamine besproken, zoals het gebruik van dopamine om de DA-agonisten te studeren.

bioanalytical studies with propyl-2-aminotetralin. These compounds were de-

receptor binding test

of the ways by which in vitro and in vivo activity in drugs. It is relation of these test of agonists and es of a DA receptor sub- ssed, i.e. the division A-sensitive adenylate ly coupled to this en- n the DA neuron, and dition the structure- hortly discussed. It is y synthesized DA receptor escription of the

in Parkinson's Disease is s, such as the use of sychotics.

creasing rat brain concen- chapter 3. Time-effect opyl-2-aminotetralins the most potent, followed by ogues. The non-hydroxy- ydroxy-analogue was in- in behavioural test the 7- and the 6-mono- at in decreasing DA meta- in the rat. As these elective activity the same elective autoreceptor-

corroborate the findings tralins in particular was prolactone-induced ele- is thought to reflect in the rat, which is It is concluded that this

ne brain and serum concen- reported in Chapter 5. Use ith amperometric detection. brain and blood concen- the drugs. The results tes into the brain is de-

pendent on a number of parameters, of which the most important is the meta- bolism to inactivate derivatives by the enzyme catechol-O-methyl transferase. By making a correction for the different brain concentrations it was possible to demonstrate that the ratio of in vivo potencies of two aminotetralins is similar to the ratio of their potencies in vitro. In other words, the dis- crepancy between the in vitro and in vivo data for these drugs could be ex- plained.

The measurement of very low brain concentrations of these aminotetralins indicated a difference in concentration between brain areas with a high den- sity of DA receptors and areas where DA receptors are absent.

This phenomenon was studied in detail and in Chapter 6 it is shown that this difference is due to binding to DA receptors. An in vivo DA receptor binding test was developed in which N,N-dipropyl-2-amino-5,6-dihydroxytetra- lin is administered to rats and the difference in concentration between the brain areas striatum and cerebellum is determined. This difference, reflecting specific binding to DA receptors, is reduced after pretreatment with DA re- ceptor antagonists or agonists. The occupation of the receptors by the agonist was studied in relation to behavioural (induction of stereotypy) and bio- chemical (decrease in DA metabolites) effects. The biochemical effect was al- ready maximal when the receptor occupation was still below the detection limit of the assay, while the stereotypy appeared to be directly related to the receptor occupation.

SAMENVATTING

Dit proefschrift gaat over dopamine (= DA) receptor agonisten. Dat zijn stof- fen die in het lichaam de werking van de lichaamseigen stof DA kunnen naboot- sen.

In Hoofdstuk 1 wordt een kort overzicht gegeven van het belang van DA als neurotransmitter, d.w.z. als stof die door DA-bevattende zenuwcellen wordt afgegeven en inwerkt op andere zenuwcellen. In de hersenen liggen de dopami- nerge zenuwcellen in een aantal kernen met uitlopers naar andere kernen. Een belangrijke zenuwbaan loopt van de substantia nigra naar het striatum. Als de cellen in de substantia nigra worden geactiveerd geven ze DA af in het striatum. Het belang van dit dopaminerge systeem ligt in het controleren en inzetten van beweging. Bij de ziekte van Parkinson zijn deze cellen versneld afgestorven. Deze ziekte gaat dan ook gepaard met ernstige bewegingsstoornis- sen. Andere dopaminerge systemen zijn in verband gebracht met geestelijke processen en afwijkingen (schizofrenie) en met het regelen van de afgifte van het hormoon prolactine.

DA en neurotransmitters in het algemeen werken in op andere zenuwcellen doordat ze binden aan receptoren die zich bevinden in de celwand van die an- dere zenuwcellen. Door die binding wordt een signaal overgebracht en andere zenuwcellen worden geactiveerd of geïnhibeed.

In dit eerste hoofdstuk wordt vermeld op welke wijze men farmakologisch (d.i. door het toedienen van - mogelijke - geneesmiddelen) de activiteit van de dopaminerge systemen kan beïnvloeden. Een belangrijke manier is de directe aktiverende werking op DA receptoren door DA agonisten.

In Hoofdstuk 2 wordt eerst een overzicht gegeven van de testsystemen die in gebruik zijn om de DA agonist activiteit aan te tonen van chemische stoffen.

Deze testsystemen zijn in vitro, waarbij weefsels of weefselpreparaten van proefdieren worden gebruikt, of in vivo, waarbij met het levende proefdier wordt gewerkt. De verschillende testsystemen worden kort besproken en de relatie van de verschillende testsystemen tot elkaar wordt aangegeven. Het blijkt dat over deze relatie vaak maar weinig bekend is, terwijl in een aantal gevallen de activiteit van reeksen agonisten en antagonistinnen zodanig verschillend is in de testsystemen, dat er sprake lijkt te zijn van verschillende DA receptoren. De twee belangrijkste hypothesen op dit gebied worden besproken, nl. de verdeling in D_1 en D_2 receptoren en die in autoreceptoren en postsynaptische receptoren. D_1 receptoren zijn biochemisch gekenmerkt doordat ze gekoppeld zijn aan het enzym adenylaat cyclase en de activiteit van dit enzym verhogen. D_2 receptoren zijn niet gekoppeld aan dit enzym of verlagen de adenylaat cyclase activiteit. De bewijslast voor deze indeling is sterk biochemisch gericht en vooral gebaseerd op gegevens verkregen met in vitro test systemen. Autoreceptoren zijn gekenmerkt doordat ze zich bevinden op de dopaminerge zenuwcel zelf. Ze worden ook wel presynaptische receptoren genoemd en ze beïnvloeden de activiteit van de eigen zenuwcellen. Zo maken de autoreceptoren deel uit van een negatief terugkoppelingssysteem: vrijmaking van de neurotransmitter DA verlaagt door middel van autoreceptor stimulering de activiteit van de dopaminerge zenuwcellen. Daarnaast blijft de hoofdwerking van het vrijgemaakte DA natuurlijk de aktivering van postsynaptische DA receptoren, gelegen op andere cellen. De bewijslast voor deze indeling is gebaseerd op verschillende in vitro maar vooral in vivo test systemen.

Verder wordt in dit hoofdstuk de relatie tussen chemische structuur en DA agonist activiteit behandeld. Gekonkludeerd wordt dat er, ondanks de grote hoeveelheid gegevens die de laatste jaren is verzameld, weinig meer is te zeggen dan dat er voor dopaminerge activiteit nodig zijn een aromatische ring en een stikstof op een bepaalde afstand van die ring. Belangrijk lijkt te zijn dat de stikstof en de aromatische ring in één vlak liggen. Verder is er binnen een reeks van verwante chemische structuren wel aan te geven welke substituenten de DA agonist activiteit versterken of verzwakken, maar is het erg moeilijk om algemeen geldende regels te vinden. In veel gevallen is voor een sterke activiteit een hydroxyl groep op de aromatische ring gewenst, waarbij de plaatsing ten opzichte van de stikstof-bevattende zijketen van belang is met een voorkeur voor de meta plaats. Maar er zijn talrijke DA agonisten zonder hydroxyl groep.

Tot slot wordt in dit hoofdstuk iets gezegd over de klinische toepassing van DA agonisten. Ergoline-derivaten zoals bromocriptine zijn in gebruik bij de ziekte van Parkinson en bij aandoeningen met een verhoogde prolactine-afscheiding. Van de toekomstige toepassingen kan o.a. genoemd worden de mogelijke antipsychotische werking van stoffen die selektief de DA autoreceptoren stimuleren.

In Hoofdstuk 3 wordt de activiteit van een aantal DA receptor agonisten beschreven. Het testsysteem bestond uit het meten van de concentraties van de metaboliëten van DA in ratteherenen. Centraal werkzame DA agonisten verlagen die concentraties. De belangrijkste geteste stoffen zijn een zevental N,N-dipropyl-2-aminotetralines. Van deze agonisten werd het effect gemeten na verschillende doseringen en op verschillende tijden na toediening. N,N-dipropyl-2-amino-5,6-dihydroxytetraline was het sterkst werkzaam van deze derivaten en is één van de krachtigste DA receptor agonisten die er bekend zijn. Deze stoffen waren tot nu toe alleen getest in systemen die iets zeggen over de postsynaptische activiteit, zoals het opwekken van stereotyp gedrag in de rat. Het blijkt nu dat de activiteit van sommige stoffen in ons biochemisch test systeem, dat in ieder geval gedeeltelijk gebaseerd is op aktivering van autoreceptoren, vele malen sterker is dan in het postsynaptische test systeem.

Dit is nader bestudeerd en de resultaten worden beschreven in Hoofdstuk 4.

Hier zijn de stoffen, receptoren, namelijk het t herenen na toediening : het vorige hoofdstuk : lin is ongeveer 50 ma test. Deze stof vertoc

Om de aktiviteiten te kunnen schatten en tests is het nodig te tot in de herenen, wa bloed- en hersenconcen Hoofdstuk 5. Er wordt met behulp van hoge dr tie. Deze methode kan chol groep. De resulta van de toegediende sto de omzetting tot onwerl ferase. Door rekening 1 aan te tonen dat het ve nes overeenkomt met het diskrepanctie die er bes voor deze stoffen worde

Bij meting van zeer dat de concentraties ho zijn dan in de gebieden

Dit verschijnsel is hoe kon worden aangetoo receptoren. Op grond hi werkt, waarbij N,N-dipr aan ratten en het versch tum en cerebellum wordt stof wordt van de DA re met een andere stof die deze receptorbinding te chemische effecten (verl reeds maximaal als de re wijl het eerste effect p maximaal is.

derivaten van
proefdier
en en de re-
ven. Het
in een aan-
zodanig ver-
verschillen-
worden be-
receptoren en
merkt doordat
t van dit
of verlagen
g is sterk
t in vitro
vinden op de
toren ge-
Zo maken de
vrijmaking
stimulering
e hoofdw-
naptische DA
deling is ge-
men.
ktuur en DA
s de grote
er is te
matische ring
lijkt te
Verder is er
ven welke
maar is het
llen is voor
gewenst,
keten van be-
jke DA agonis-
toepassing
gebruik bij
olactine-
orden de
DA autorecep-
agonisten
raties van de
sten verlagen
ental N,N-
gemeten na ver-
N,N-dipropyl-
e derivaten en
ijn. Deze
gen over de
drag in de rat.
hemisch test
ring van auto-
st systeem.
n Hoofdstuk 4.

Hier zijn de stoffen getest in een systeem dat selektief is voor autorecep-
toren, namelijk het tegengaan van de verhoging in DA concentraties in ratte-
hersen na toediening van γ -butyrolacton. De resultaten bevestigen wat in
het vorige hoofdstuk is beschreven. Vooral N,N-dipropyl-2-amino-7-hydroxytetra-
lin is ongeveer 50 maal sterker in de biochemische tests dan in de stereotypie
test. Deze stof vertoont dus selektiviteit voor DA autoreceptoren.

Om de activiteiten van stoffen in in vivo test systemen goed op hun waarde
te kunnen schatten en te kunnen vergelijken met de activiteiten in in vitro
tests is het nodig te weten hoeveel van de dosis die is toegediend doordringt
tot in de hersenen, waar het effect moet worden uitgeoefend. De bepaling van
bloed- en hersenconcentraties in de rat van DA agonisten is het onderwerp van
Hoofdstuk 5. Er wordt beschreven hoe deze concentraties bepaald kunnen worden
met behulp van hoge druk vloeistof chromatografie met amperometrische detek-
tie. Deze methode kan worden toegepast voor alle DA agonisten met een cate-
chol groep. De resultaten geven aan dat een aantal factoren bepaalt hoeveel
van de toegediende stof in de hersenen doordringt. De belangrijkste faktor is
de omzetting tot onwerkzame derivaten door het enzym catechol-O-methyl trans-
ferase. Door rekening te houden met de hersenconcentraties bleek het mogelijk
aan te tonen dat het verschil in werkzaamheid in vivo van twee aminotetrali-
nes overeenkomt met het verschil in werkzaamheid in vitro. Zo kon de grote
diskrepanctie die er bestaat tussen de gegevens verkregen in vitro en in vivo
voor deze stoffen worden verklaard.

Bij meting van zeer lage hersenconcentraties van de aminotetralines bleek
dat de concentraties hoger zijn in die hersendelen waar veel DA receptoren
zijn dan in de gebieden waar deze receptoren niet aanwezig zijn.

Dit verschijnsel is nader bestudeerd en in Hoofdstuk 6 wordt beschreven
hoe kon worden aangetoond dat dit verschil te wijten is aan binding aan DA
receptoren. Op grond hiervan is een in vivo DA receptor bindingstest uitge-
werkt, waarbij N,N-dipropyl-2-amino-5,6-dihydroxytetraline wordt toegediend
aan ratten en het verschil tussen de concentraties in de hersengebieden stria-
tum en cerebellum wordt gemeten. Dit verschil wordt kleiner, d.w.z. deze
stof wordt van de DA receptoren verdrongen, door de rat voor te behandelen
met een andere stof die bindt aan DA receptoren. Het bleek interessant om
deze receptorbinding te relateren aan gedragseffekten (stereotypie) en bio-
chemische effecten (verlaging van DA metaboliëten). Het tweede effect is
reeds maximaal als de receptorbezetting nog niet eens gemeten kan worden, ter-
wijl het eerste effect pas maximaal is als de receptorbezetting ook vrijwel
maximaal is.